



THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of
Thierry Canton, et al

Examiner: Not Yet Assigned

Group Art Unit. Not Yet Assigned

Application No.: **10/734,787**

Filed: **December 12, 2003**

Title: **Application Of Intestinal Biliary Acid
Reuptake Inhibitors For The Prevention
And Treatment Of Alzheimer's Disease**

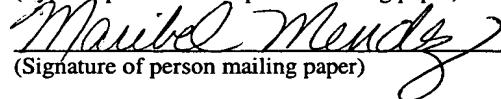
CERTIFICATE OF MAILING (37 CFR 1.8a)

I hereby certify that this paper (along with any referred to as being attached or enclosed) is being deposited with the United States Postal Service on the date shown below with sufficient postage as first class mail in an envelope addressed to the: Commissioner for Patents, P. O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.

Date of Deposit March 25, 2004

Maribel Mendez

(Type or print name of person mailing paper)



(Signature of person mailing paper)

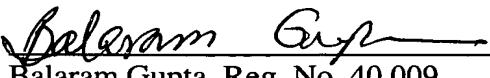
Mail Stop
Commissioner for Patents
P. O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

**SUBMISSION AND REQUEST FOR ENTRY
OF PRIORITY PAPERS 37 C.F.R. § 1.55(a)**

Applicants submit herewith certified copies of French application(s), 0215722, (all) filed on December 12, 2002, for which priority is claimed in the above-identified application.

This submission and request for entry is being made to satisfy the requirements under 35 U.S.C. § 119. Please note that no fees are associated with the entry of the priority documents since they are being timely submitted prior to the date the issue fee is due.

Respectfully submitted,


March 25, 2004

Balaram Gupta, Reg. No. 40,009
Attorney/Agent for Applicant

Aventis Pharmaceuticals Inc.
Patent Department
Route #202-206 / P.O. Box 6800
Bridgewater, New Jersey 08807-0800
Telephone (908) 231-3364
Telefax (908) 231-2626

Aventis Docket No. FRAV2002/0036 US NP



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 07 NOV. 2003

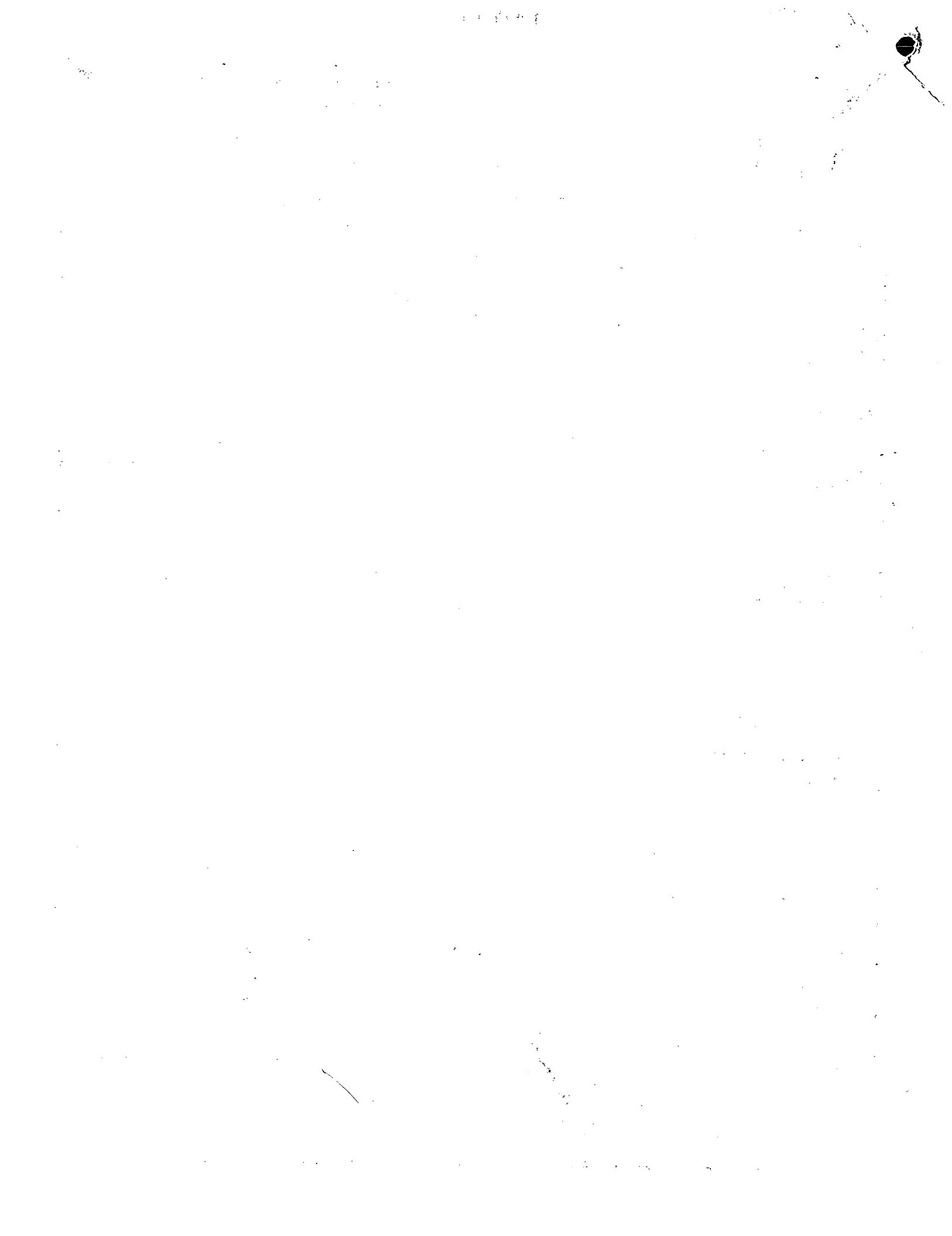
Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Martine PLANCHE', is placed over a stylized oval.

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIETE
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0) 1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0) 1 53 04 45 23
www.inpi.fr





INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11354*01

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Important : Remplir impérativement la 2ème page.

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 190600

REMISE DES PIÈCES DATE 12 DEC 2002 LEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 12 DEC 2002 Vos références pour ce dossier <i>(facultatif)</i> FRAV2002/0036		Réserve à l'INPI
1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE Aventis Pharma S.A. Monsieur ROUSSEAU Pierrick Direction des Brevets Tri K2 / 144 20, Avenue Raymond Aron 92165 ANTONY CEDEX		
Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie		
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes
Demande de brevet <input checked="" type="checkbox"/> Demande de certificat d'utilité <input type="checkbox"/> Demande divisionnaire <input type="checkbox"/> <i>Demande de brevet initiale</i> <input type="checkbox"/> N° _____ Date _____ / _____ / _____ <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> <input type="checkbox"/> N° _____ Date _____ / _____ / _____		
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i> <input type="checkbox"/> N° _____		Date _____ / _____ / _____
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Application des inhibiteurs de recapture intestinale des acides biliaires pour la prévention et le traitement de la maladie d'Alzheimer.		
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation Date _____ / _____ / _____ N° Pays ou organisation Date _____ / _____ / _____ N° Pays ou organisation Date _____ / _____ / _____ N° <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »
5 DEMANDEUR		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »
Nom ou dénomination sociale		Aventis Pharma S.A.
Prénoms		
Forme juridique		Société Anonyme à Directoire et Conseil de Surveillance
N° SIREN		3 . 0 . 4 . 4 . 6 . 3 . 2 . 8 . 4
Code APE-NAF	
Adresse	Rue	20, Avenue Raymond Aron
	Code postal et ville	92160 ANTONY
Pays		FRANCE
Nationalité		Française
N° de téléphone (facultatif)		01 55 71 72 85
N° de télécopie (facultatif)		01 55 71 72 91
Adresse électronique (facultatif)		

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2

REMISE DES PIÈCES		Réervé à l'INPI
DATE	12 DEC 2002	
LEU	75 INPI PARIS	
N° D'ENREGISTREMENT	0215722	
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		

CB 540 W /190600

6 MANDATAIRE			
Nom ROUSSEAU			
Prénom Pierrick			
Cabinet ou Société Aventis Pharma S.A.			
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel			
Adresse	Rue	20, Avenue Raymond Aron	
	Code postal et ville	92165	ANTONY CEDEX
N° de téléphone (facultatif)		01 55 71 72 85	
N° de télécopie (facultatif)		01 55 71 72 91	
Adresse électronique (facultatif)			
7 INVENTEUR (S)			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée	
8 RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en deux versements, uniquement pour les personnes physiques	
		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques	
		<input type="checkbox"/> Requise pour la première fois pour cette invention (<i>joindre un avis de non-imposition</i>) <input type="checkbox"/> Requise antérieurement à ce dépôt (<i>joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence</i>):	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI	
ROUSSEAU Pierrick Mandataire		 	

La présente invention a pour objet l'application des inhibiteurs de recapture intestinale des acides biliaires pour la prévention et le traitement de la maladie d'Alzheimer.

5 La maladie d'Alzheimer (AD) est une maladie neuro-dégénérative progressive qui affecte une large proportion de la population âgée. Cette maladie est caractérisée sur le plan clinique par une perte de la mémoire et un déclin des fonctions cognitives, sur le plan neuropathologique par la 10 présence dans le cerveau de dépôts neurofibrillaires intracellulaires et de dépôts extracellulaires du peptide β -amyloïde (A- β) formant les plaques amyloïdes (Yankner BA 15 (1996) *Neuron* 16 : 921-932). A ces signes s'ajoutent un nombre important d'autres changements anormaux incluant une 15 altération des systèmes immunitaires et inflammatoires ainsi qu'une altération de la fonction mitochondriale pouvant conduire à une augmentation du stress oxydatif, une activation des mécanismes de l'apoptose et de manière ultime à la mort cellulaire.

20 Les plaques amyloïdes sont majoritairement composées des peptides A- β à 40 ou 42 résidus qui sont générés lors du processus protéolytique de la protéine précurseur du péptide β -amyloïde (APP). Les dépôts extracellulaires de A- β sont très spécifiques de l'AD et des désordres associés. Ils 25 représentent la caractéristique invariable de toutes les formes de l'AD, incluant les formes familiales (FAD). Les formes familiales précoces de la maladie (apparition entre 40 et 60 ans) sont dues à des mutations dans le gène de l'APP et dans les gènes de la présénilin-1 (PS1) et de la 30 présénilin-2 (PS2). Les mutations dans ces trois gènes induisent des changements dans la protéolyse de l'APP, conduisant à une surproduction d'A β et à l'apparition précoce de la pathologie et des symptômes qui sont similaires à ceux des formes sporadiques de l'AD. (Czech C., et al. (2000) 35 *Progress in Neurobiology* 60 : 361-382).

Un lien entre le cholestérol et la maladie d'Alzheimer a également été établi à partir d'études épidémiologiques et de résultats d'études biochimiques et de biologie cellulaire

récentes (voir revue Hartmann, T. (2001) *TINS* **24** : S45-48). Un taux de cholestérol élevé à l'âge adulte ainsi qu'une tension artérielle élevée accroissent significativement le risque de maladie d'Alzheimer (Kivipelto et al., 2001 *Br Med J.* **322** : 1447).

A l'opposé, un risque très diminué est enregistré dans les populations sous traitement avec les agents hypcholestérolémiant type statines (Wolozin et al. (2000) *Arch Neurol.* **57** : 1439 ; Jick et al. (2000) *Lancet* **356** : 1627).

10 Le lien moléculaire semble avoir été récemment établi.

In vitro et *in vivo*, un taux de cholestérol élevé augmente la production du peptide A- β et accélère l'apparition de plaques amyloïdes (Sparks et al. (1994) *Exp. Neurol.* **126** : 88-94 ; Refolo et al. (2000) *Neurobiol. Dis.* **7** : 321-331 ; Puglielli et al. (2001) *Nat. Cell Biol.* **3** : 905 ; Shie et al. (2002). *Neuroreport* **13** : 455) tandis que les inhibiteurs de la voie de synthèse du cholestérol les diminuent (Simons et al. (1998) *PNAS USA* **95** : 6460-6464 ; Faßbender et al. (2001) *PNAS USA* **98** : 5856, Refolo et al., (2001) *Neurobiol. Dis.* **8** : 20 890-899).

Dans le but de diminuer le taux de peptide β -amyloïde *in vivo*, et traiter, prévenir ou réduire la progression de la maladie d'Alzheimer, il a donc été suggéré d'utiliser des inhibiteurs de la synthèse du cholestérol tels que ceux de la 25 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase (HMG CoA reductase), une enzyme impliquée dans la biosynthèse du cholestérol, tels que décrits dans WO 00/28981 et notamment les statines telles que la simvastatin (Hartman, 2001 *TINS* **24** : S45-48).

30 Jusqu'à présent, il n'a pas été défini si l'effet thérapeutique des statines était dû à une action directe au niveau du système nerveux central ou si elles agissaient par diminution du cholestérol plasmatique. En effet, un effet limité aux niveaux de cholestérol plasmatique semblait peu probable puisqu'il était généralement admis que le cholestérol cérébral était indépendant du cholestérol plasmatique (Dietschy et Turley (2001) *Curr. Opin. Lipidol.* **12** : 105-112).

La demanderesse a mis en évidence qu'une classe pharmacologique spécifique, les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires (Biliary Acid Reuptake Inhibitor or BARI), qui permettent de diminuer le taux de cholestérol plasmatique en bloquant la recapture d'acides biliaires dans l'intestin, pouvait également diminuer les taux de peptide β -amyloïde dans le cerveau.

Les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires ne sont pas absorbés, et leur site d'action est dans l'intestin où ils bloquent la recapture des acides biliaires excrétés, qui constituent une large source de précurseur de cholestérol.

Les résultats obtenus et décrits plus bas dans la partie expérimentale permettent de mettre en évidence qu'il est suffisant de diminuer les taux de cholestérol plasmatique pour diminuer les niveaux de peptide β -amyloïde dans le cerveau.

De manière surprenante, il a donc été démontré que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires (BARI) sont efficaces dans un modèle animal de la maladie d'Alzheimer en n'agissant que par l'intermédiaire de la régulation du taux plasmatique de cholestérol et en particulier en ne pénétrant pas dans le cerveau, car il ne sont pas absorbés dans l'organisme.

Par prévention ou traitement de la maladie d'Alzheimer on entend la possibilité de prévenir ou retarder l'apparition et/ou la progression de la maladie d'Alzheimer.

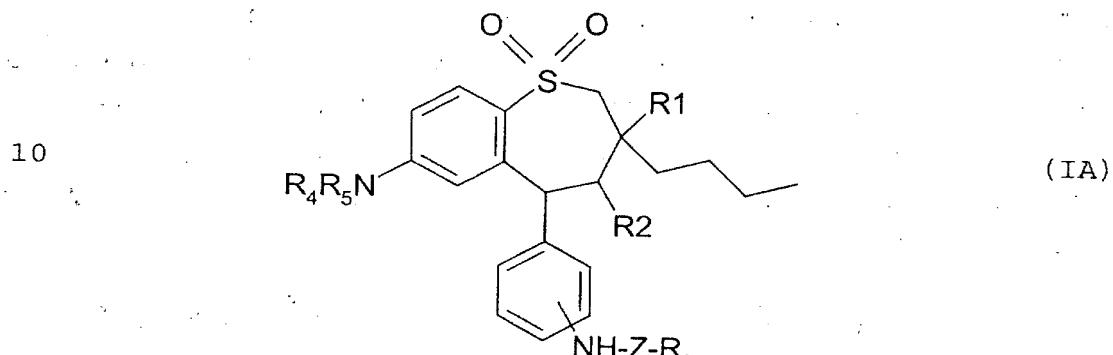
L'invention a donc pour objet l'application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.

De manière plus générale, l'invention a pour objet l'application des composés ou mélange de composés qui diminuent les niveaux de cholestérol plasmatique sans nécessité d'être absorbés dans l'organisme après leur administration orale, pour prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.

Les molécules ayant une activité inhibitrice de recapture d'acides biliaires (BARI) sont notamment décrits

dans les brevets US 6,221,897 et US 6,245,744.

L'invention a donc plus particulièrement pour objet l'application telle que définie précédemment caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont 5 des composés de formule (IA)



Dans laquelle :

R¹ représente, méthyle, éthyle, propyle ou butyle

R² représente H, OH, NH₂, ou NH-(C₁-C₆)alkyle

R³ est un monosaccharide, bi-saccharides, tri-saccharides ou 20 quadri-saccharides, le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur des sucres ;

R⁴ est méthyle, éthyle, propyle ou butyle

R⁵ est méthyle, éthyle, propyle ou butyle

Z est (C=O)_n-(C₀-C₁₆)-alkyle ; (C=O)_n-(C₀-C₁₆)-alkyle-NH ; 25 (C=O)_n-(C₀-C₁₆)-alkyle-O ; (C=O)_n-(C₀-C₁₆)-alkyle-(C=O)- ; ou une liaison covalente ;

n est 0 ou 1

m est 0 ou 1

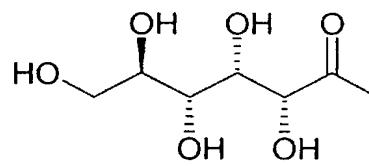
ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement 30 acceptables.

Par radical monosaccharide, on entend des polyalcools à 5, 6, 7 ou 8 atomes de carbone, comportant aussi des groupements carbonyles (cétonique ou aldéhydique), lesquels le plus souvent n'existent pas à l'état libre mais sont 35 combinés avec un ou des groupements hydroxyles de la même molécule, sous forme d'hémicétal ou d'hémicétal cyclique. Il peut s'agir de sucres à 5 atomes de carbone tels que le L-arabinose, le D-ribose, le déoxy-2 D-ribose et le D-xylose.

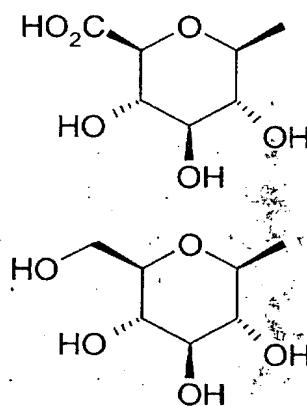
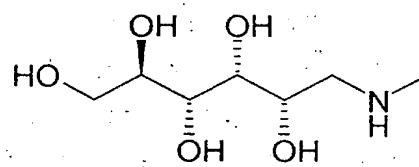
Ces sucres font partie de la série des pentoses (ou aldopentoses).

Il peut également s'agir des sucres à 6 carbones tels que le D-glucose, le D-fructose, le D-galactose et le D-mannose. Il peut également s'agir de l'érythrose, du glycéraldéhyde, du sédoheptulose, de la glucosamine, de la galactosamine, de l'acide glucuronique, de l'acide galacturonic, de l'acide gluconique, de l'acide galactonique, de l'acide mannonique, de la glucamine, du 3-amino-1,2-propanediol, de l'acide glucarique et de l'acide galactarique. Parmi les glucides préférés, on peut citer les radicaux suivants :

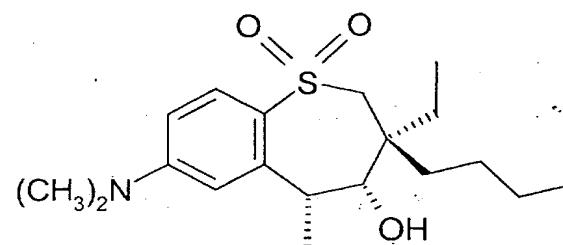
15



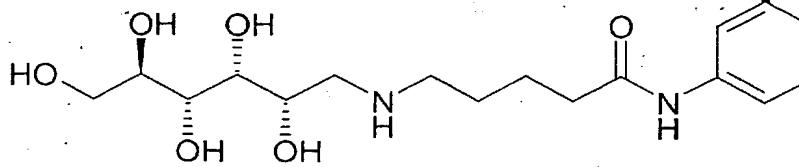
20



30

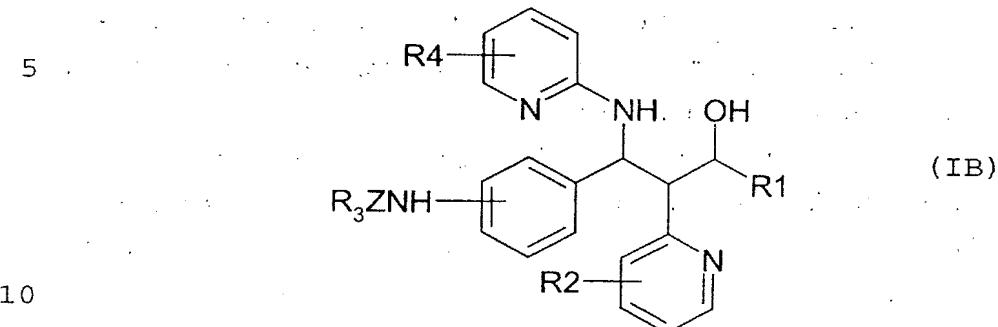


35



L'invention a également plus particulièrement pour objet l'application telle que définie précédemment caractérisée en

ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont des composés de formule (IB) :



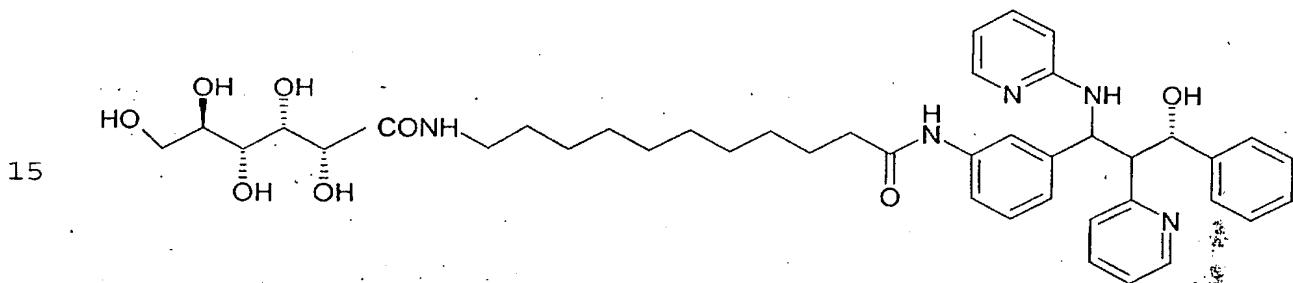
dans laquelle R¹ est un radical phényle ou un groupement hétéroaryle non substitués ou substitués par un à trois 15 radicaux indépendants choisis parmi F, Cl, Br, I, -OH, -CF₃, -NO₂, -NHR⁹, -NR⁹R¹⁰, -CHO, -CO₂H, -CO₂R¹¹, -COR¹², -(C₁-C₆)-alkyl-OH, -(C₁-C₆)-alkyl-OH-phényl, -(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -(C₁-C₆)-alkyl-CN, -(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂H, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂R¹¹, -(C₁-C₆)-alkyl-COR¹², -O-(C₁-C₆)-alkyl-OH, -O-(C₁-C₆)-alkyl(-OH)-phényl, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CN, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -O-(C₁-C₆)-N-S₃H, -S₂-CH₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-O-(C₁-C₆)-alkyl-phényl, -(C₁-C₆)-alkylthio ou pyridyle, lesdits 25 dérivés alkyles pouvant être substitués par un ou plusieurs atomes de fluor et les groupements phényles ou pyridyles pouvant être monosubstitués par méthyle, méthoxy ou halogène ;

30 R² représente H, OH, -CH₂OH, -OMe, -CHO ou -NH₂ R³ est un résidu mono saccharide, di-saccharides, tri saccharides ou quadri-saccharides le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur des sucres, HO-SO₂- ou (HO)₂-PO- ;

35 R⁴ est H, méthyle, F ou -OMe, R⁹ à R¹² représentent indépendamment l'un de l'autre H ou -(C₁-C₈)-alkyle Z représente une liaison covalente, un groupement -NH-(C₀-

$C_{36})$ -alkyl-CO-, -O- (C_0-C_{36}) -alkyl-CO-, - (CO)_m- (C_0-C_{36}) -alkyl-(CO)_n-, un résidu d'aminoacide, un résidu de diaminoacide, étant entendu que le dit résidu d'aminoacide ou résidu de diaminoacide peut être mono ou polysubstitué par un groupe 5 protecteur d'amino acide, ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement acceptables.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'application telle que définie précédemment caractérisée en ce que l'inhibiteur de recapture d'acides biliaires est le 10 composé de formule (IB) (produit B) suivant : .



Les préparations de ces composés sont décrites dans les 20 brevets cités plus haut.

Les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires dans leur application selon l'invention peuvent être administrés tels quels ou en association avec un ou plusieurs autres composés choisis parmi :

25 - les inhibiteurs de HMG-CoA reductase tels que les statines,

26 - les inhibiteurs de la capture de cholestérol,

27 - les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol et tout autre agent réduisant les taux de cholestérol plasmatique

30 et/ou cérébral,

31 - les inhibiteurs des APP γ et β secrétases.

Parmi les inhibiteurs de la capture de cholestérol, on peut citer l'Ezetimibe. Parmi les inhibiteurs des APP γ et β secrétases, on peut citer le composés tels que décrits par H. 35 Josien (2002, Current Opinion in Drug Disc. & dev 5 : 513-525) ou dans la revue générale de M.S. Wolfe, (2002, Nat. Rev. Drug. Discov. 1 : 859-866).

L'invention a donc également pour objet l'application

telle que définie précédemment caractérisée en ce que les inhibiteur de recapture d'acides biliaires sont associés avec un ou plusieurs autres composés choisis parmi

- a) les inhibiteurs de HMG-CoA réductase, ou
- 5 b) les inhibiteurs de la capture de cholestérol, ou
- c) les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol, ou
- d) les inhibiteurs des APP secrétases.

10 L'invention a donc également pour objet l'application telle que définie précédemment caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont associés avec un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP γ et β secrétases pour une administration simultanée, séparée ou étalée dans le 15 temps.

En d'autres termes, l'invention a pour objet une méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer pour un patient ayant un risque de développer cette maladie ou étant en cours de développer cette maladie comprenant 20 l'administration à ce patient une quantité thérapeutiquement efficace d'un inhibiteur de recapture d'acides biliaires tel que défini précédemment.

Les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires peuvent être administrés sous la forme d'une préparation pharmaceutique (composition pharmaceutique) qui permet une administration par voie orale ou per-orale (par exemple sublinguale).

30 L'invention a donc également pour objet l'application pour la prévention ou le traitement de la maladie d'Alzheimer, des compositions pharmaceutiques renfermant une dose efficace d'au moins un composé inhibiteur de recapture d'acides biliaires ainsi qu'un ou plusieurs supports pharmaceutiquement inertes, et/ou un ou plusieurs additifs usuels permettant une administration par voie orale ou per 35 orale.

Les médicaments selon l'invention peuvent être administrés oralement, par exemple sous forme de pilules, de comprimés, de comprimés enrobés, de pelliculés, de granules,

de gélules et capsules molles, de solutions, de sirops, d'émulsion, de suspension ou de mélange d'aérosol.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont préparées selon des méthodes connues en soi, des supports 5 organiques ou inorganiques, pharmaceutiquement inertes étant additionnés aux inhibiteurs de recapture d'acides biliaires.

Pour la production de pilules, de comprimés, de comprimés enrobés et de capsules en gélatine dure, il est possible d'utiliser par exemple, du lactose, de l'amidon de 10 maïs ou ses dérivés, du talc, de l'acide stéarique ou ses sels, etc.

Les véhicules appropriés pour la préparation de solutions, par exemple les émulsions ou les sirops sont par exemple l'eau, les alcools, le glycérol, les polyols, le 15 sucre, les sucres invertis, le glucose, les huiles végétales, etc. Les préparations pharmaceutiques contiennent normalement de 0,05 % à 90 % en poids d'inhibiteur de recapture d'acides biliaires.

En plus des principes actifs et des supports, les 20 préparations pharmaceutiques peuvent contenir des additifs tels que par exemple des diluants, des désintégrants, des liants, des lubrifiants, des agents mouillant, des stabilisants, des émulsifiants, des préservateurs, des agents sucrant, des colorants des agents de flaveurs ou des 25 aromatisants, des épaississants, des agents tampons, et aussi des solvants ou des solubilisants ou des agents pour obtenir un effet retard et également des sels pour modifier la pression osmotique, des agents d'enrobage ou des antioxydants.

30 Les préparations pharmaceutiques peuvent également contenir deux ou plusieurs inhibiteurs de recapture d'acides biliaires. En outre, en plus d'au moins un ou plusieurs inhibiteur de recapture d'acides biliaires, ils peuvent contenir au moins un ou plusieurs autres principes actifs 35 utilisables à titre thérapeutique ou prophylactique tels que un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP γ et β secrétases.

Les préparations pharmaceutiques (compositions pharmaceutiques) selon l'invention renferment normalement de 0,01 à 100 mg, et de préférence de 0,02 à 50 mg d'inhibiteur de recapture d'acides biliaires.

5 Lorsqu'on utilise les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires, les doses peuvent varier à l'intérieur de limites larges et doivent être fixées en fonction de la personne à traiter. Ceci dépend par exemple du composé employé ou de la nature et de la sévérité de la maladie à traiter et si on se 10 trouve dans des conditions graves ou chronique ou si on met en oeuvre un traitement prophylactique.

Dans le cas d'une administration par voie orale, la dose quotidienne varie en général de 0,1 à 100 mg/kg et de préférence de 0,1 à 50 mg/kg, en particulier de 0,1 à 5 mg/kg. Par 15 exemple pour un adulte de 75 kg on pourra envisager une dose quotidienne variant de 0,3 à 0,5 mg/kg.

La dose quotidienne peut être divisée, en particulier dans le cas de l'administration de grande quantité de principe actif, en plusieurs, par exemple 2, 3 ou 4 parts. Le 20 cas échéant, en fonction du comportement individuel, il peut être nécessaire d'administrer les différentes doses de manière croissante ou décroissante.

Les tests *in vivo* du produit A sur la production du peptide amyloïde dans un modèle de souris transgéniques ont 25 été mis en œuvre de la manière suivante :

a) Traitement des animaux

Le produit A sous forme de poudre a été mélangé au dosage de 0,01 % (poids/poids) avec l'aliment standard sous forme de poudre.

30 Des souris transgéniques Tg53 (surexprimant le transgène humain APP portant les mutations « Swedish » et « London », (2002 Wirths, et al. (2002). *Brain Pathol.* **12**, 275-286), femelles âgées de 8-10 semaines, ont été traitées pendant 3 semaines. Les souris étaient hébergées en cage individuelle 35 avec boisson à volonté. Chaque jour, 6 grammes d'aliment en poudre (supplémenté ou non avec le produit A) étaient distribués dans chaque cage. Deux groupes de 11 à 12 animaux (régime contrôlé ou supplémenté en produit A) ont été

utilisés. A l'issue du traitement, un échantillon sanguin a été prélevé et le taux de cholestérol plasmatique déterminé à l'aide d'un automate d'analyse biologique.

b) Préparation des extraits cérébraux

Après euthanasie, le cerveau des souris a été prélevé et pesé. Le tissu a été homogénéisé individuellement sur glace à l'aide d'un Potter dans 10 volumes (poids/volume) d'une solution tampon: 0,32 M sucrose, Tris-HCl 4 mM, pH 7,4 contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Complete™, Roche Diagnostics). L'homogénat a ensuite été centrifugé à 50,000 x g, 2 h à 4°C et le surnageant prélevé pour constituer la fraction soluble de cerveau et a été conservé à -80°C.

c) Dosage du peptide amyloïde par la méthode d'immunoélectrochimoluminescence.

La concentration du peptide A_β dans les fractions solubles du cerveau des souris transgéniques a été déterminée par immunoélectrochimoluminescence (Yang et al. (1994) *Biotechnology (NY)* 12(2), 193-194) à l'aide de 2 anticorps monoclonaux de souris anti-peptide A_β (4G8 et 6E10) et du lecteur Origen M8 Analyzer (IGEN Europe Inc. Oxford) suivant un protocole modifié d'après Khorkova et al. (*J. Neurosci. Methods* 82, 159-166 (1998)).

L'anticorps monoclonal 4G8 (Senetek PLC), reconnaissant l'épitope résidus 17-24 du peptide A_β, est ruthényle grâce à l'ester TAG-NHS suivant le protocole du fournisseur (IGEN Europe Inc., Oxford). Ru-4G8 et l'anticorps biotinylé 6E10, épitope 1-10 du peptide A_β (Senetek PLC) sont mis en présence de la fraction soluble de cerveau et les complexes tripartites Ru-4G8/A_β/6E10-biot quantifiés par le lecteur Origen. Une gamme de peptide synthétique A_β (Bachem) est utilisée pour calibrer chaque expérience. Le taux de peptide A_β est calculé en nanogramme par g de poids initial de tissu cérébral.

d) Résultat

Comparé au groupe régime control, le groupe régime supplémenté en produit A (0,01 % de produit A appelé BARI dans la figure 1) a montré une baisse du taux cérébral de

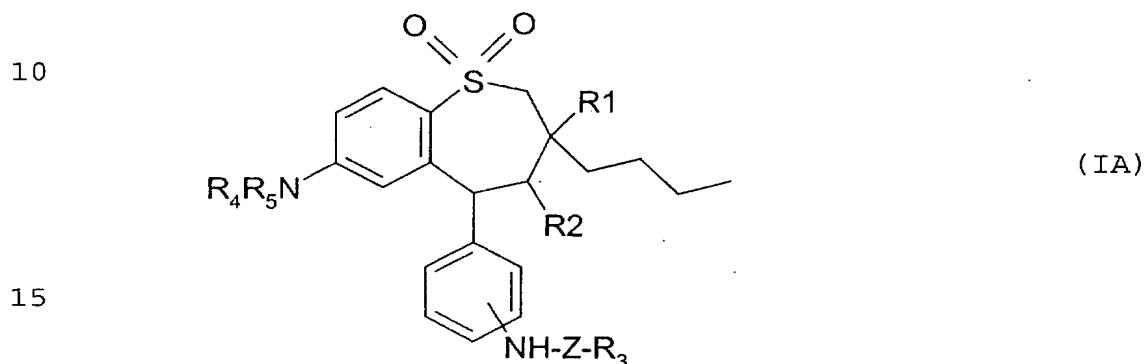
peptide A β soluble de 18 % [15,45 \pm 0,71 ng/g de tissu (n=11) comparé à 18,85 \pm 0,96 ng/g de tissu (n=12), t test non apparié, p= 0,0103].

Le taux de cholestérol plasmatique était lui aussi diminué de 14 % [groupe régime supplémenté en produit A : 0,62 \pm 0,030 g/l (n=11) comparé au groupe régime contrôle : 0,72 \pm 0,023 g/l (n=12) ; t test non apparié p=0,0154] (Voir figure 1)

REVENDICATIONS

1) Application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.

5 2) Application selon la revendication 1 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont des composés de formule (IA) :



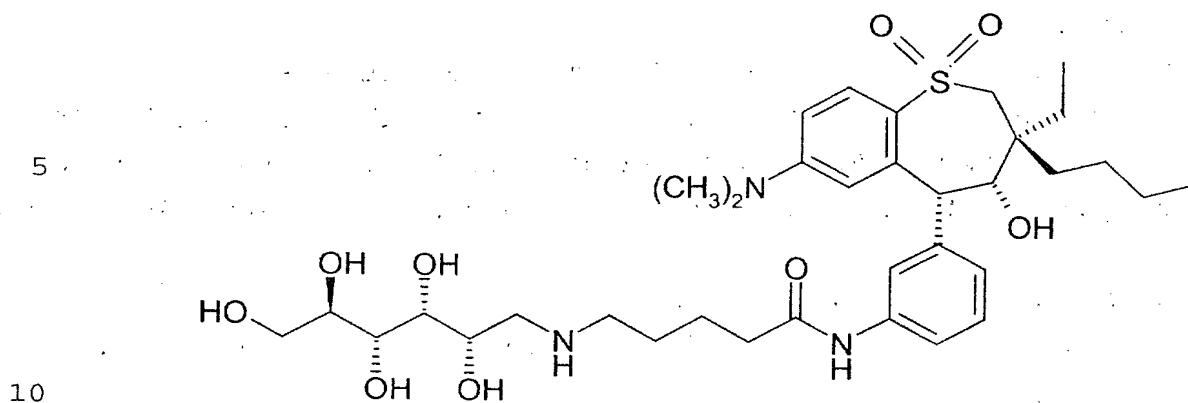
dans laquelle

20 R^1 représente, méthyle, éthyle, propyle ou butyle
 R^2 représente H, OH, NH_2 , ou $NH-(C_1-C_6)$ alkyle
 R^3 est un radical saccharide, bi-saccharide, tri-saccharide ou quadri-saccharide, le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur des sucres ;

25 R^4 est méthyle, éthyle, propyle ou butyle
 R^5 est méthyle, éthyle, propyle ou butyle
 Z est $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle ; $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle-NH ;
 $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle-O ; $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle- $(C=O)$; ou une liaison covalente ;

30 n est égal à 0 ou 1
 m est 0 ou 1
ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement acceptables.

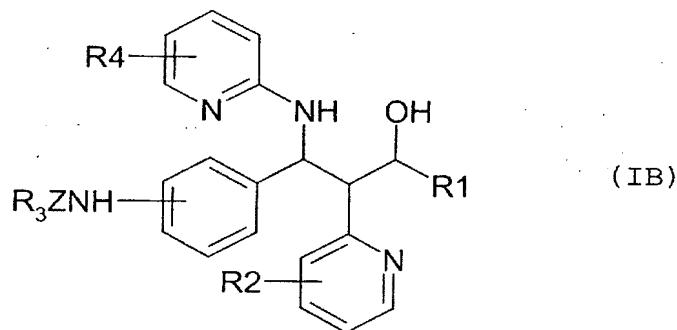
35 3) Application selon la revendication 1 ou 2 caractérisée en ce que l'inhibiteur de recapture d'acides biliaires est le composé de formule (IA) suivant :



4) Application selon la revendication 1 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont des composés de formule (IB) :

15

20



dans laquelle R¹ est un radical phényle ou un groupement hétéroaryle non substitués ou substitués par un à trois radicaux indépendants choisis parmi F, Cl, Br, I, -OH, -CF₃, -NO₂, -NHR⁹, -NR⁹R¹⁰, -CHO, -CO₂H, -CO₂R¹¹, -COR¹², -(C₁-C₆)-alkyl-OH, -(C₁-C₆)-alkyl-OH-phényl, -(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -(C₁-C₆)-alkyl-CN, -(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂H, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂R¹¹, -(C₁-C₆)-alkyl-COR¹², -O-(C₁-C₆)-alkyl-OH, -O-(C₁-C₆)-alkyl(-OH)-phényl, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CN, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -O-(C₁-C₆)-N-S₃H, -S₂-CH₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-O-(C₁-C₆)-alkyl-phényl, -(C₁-C₆)-alkylthio ou pyridyle; lesdits dérivés alkyles pouvant être substitués par un ou plusieurs atomes de fluor et les groupements phényles ou pyridyles

pouvant être monosubstitués par méthyle, méthoxy ou halogène ;

R² représente H, OH, -CH₂OH, -OMe, -CHO ou -NH₂

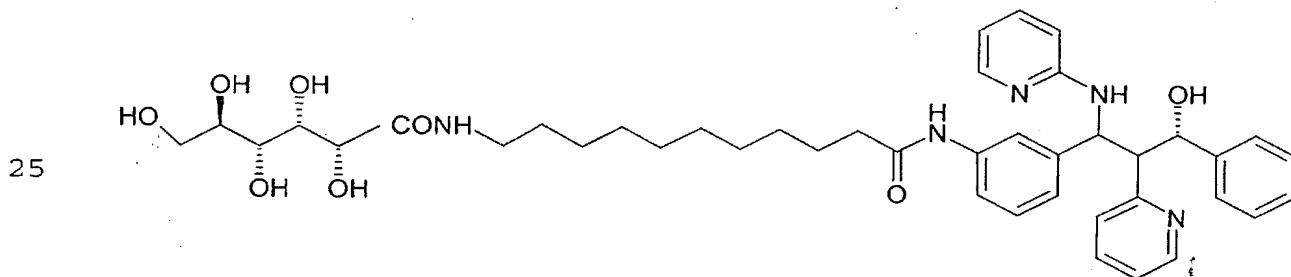
R³ est un résidu saccharide, di-saccharide, tri-saccharide ou 5 quadri-saccharide le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur des sucres, HO-SO₂- ou (HO)₂-PO- ;

R⁴ est H, méthyle, F ou -OMe,

R⁹ à R¹² représentent indépendamment l'un de l'autre H ou -(C₁-10 C₈)-alkyle

Z représente une liaison covalente, un groupement -NH-(C₀-C₃₆)-alkyl-CO-, -O-(C₀-C₃₆)-alkyl-CO-, -(CO)_m-(C₀-C₃₆)-alkyl-(CO)_n-, un résidu d'aminoacide, un résidu de diaminoacide, étant entendu que le dit résidu d'aminoacide ou résidu de 15 diaminoacide peut être mono ou polysubstitué par un groupe protecteur d'amino acide, ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement acceptables.

5) Application selon la revendication 1 ou 4 caractérisée en ce que l'inhibiteur de recapture d'acides biliaires est le 20 composé de formule (IB) suivant :



6) Application selon l'une quelconque des revendications 1 à 30 5 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont sous la forme de compositions pharmaceutiques administrables par voie orale.

7) Application selon la revendication 6 caractérisée en ce que la composition pharmaceutique administrable par voie 35 orale contient de 0,02 à 50 mg d'inhibiteurs de recapture d'acides biliaires.

8) Application telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisées en ce que un ou plusieurs

inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont associés avec un ou plusieurs composés choisis parmi les inhibiteurs de HMG-CoA reductase, les inhibiteurs de la capture de cholestérol, les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol ou 5 les inhibiteurs des APP γ et β secrétases.

9) Application selon la revendication 8, dans une administration simultanée, séparée ou étalée dans le temps des différents principes actifs.

10) Application des composés qui diminuent les niveaux de 10 cholestérol plasmatique sans nécessité d'être absorbés dans l'organisme après leur administration orale pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.

11) Méthode de prévention ou de traitement de la maladie 15 d'Alzheimer pour un patient ayant un risque de développer cette maladie ou étant en cours de développement de la maladie comprenant l'administration à ce patient d'une quantité thérapeutique efficace d'un composé ayant une activité hypcholestérolémiant et ne pénétrant pas dans 20 l'organisme après leur administration orale.

12) Méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer telle que définie à la revendication 11 caractérisée en ce que le composé ayant une activité hypcholestérolémiant et ne pénétrant pas dans l'organisme 25 est un inhibiteur de recapture d'acides biliaires.

13) Méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer telle que définie à la revendication 12 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires tels que ceux définis à l'une quelconque des 30 revendications 2 à 5.

14) Méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer telle que définie à la revendication 12 ou 13 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont administrés en association avec un ou 35 plusieurs composés choisis parmi un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP γ et β secrétases.

inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont associés avec un ou plusieurs composés choisis parmi les inhibiteurs de HMG-CoA reductase, les inhibiteurs de la capture de cholestérol, les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol ou 5 les inhibiteurs des APP γ et β sécrétases.

9) Application selon la revendication 8, dans une administration simultanée, séparée ou étalée dans le temps des différents principes actifs.

10) Application des composés qui diminuent les niveaux de cholestérol plasmatique sans nécessité d'être absorbés dans l'organisme après leur administration orale pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.

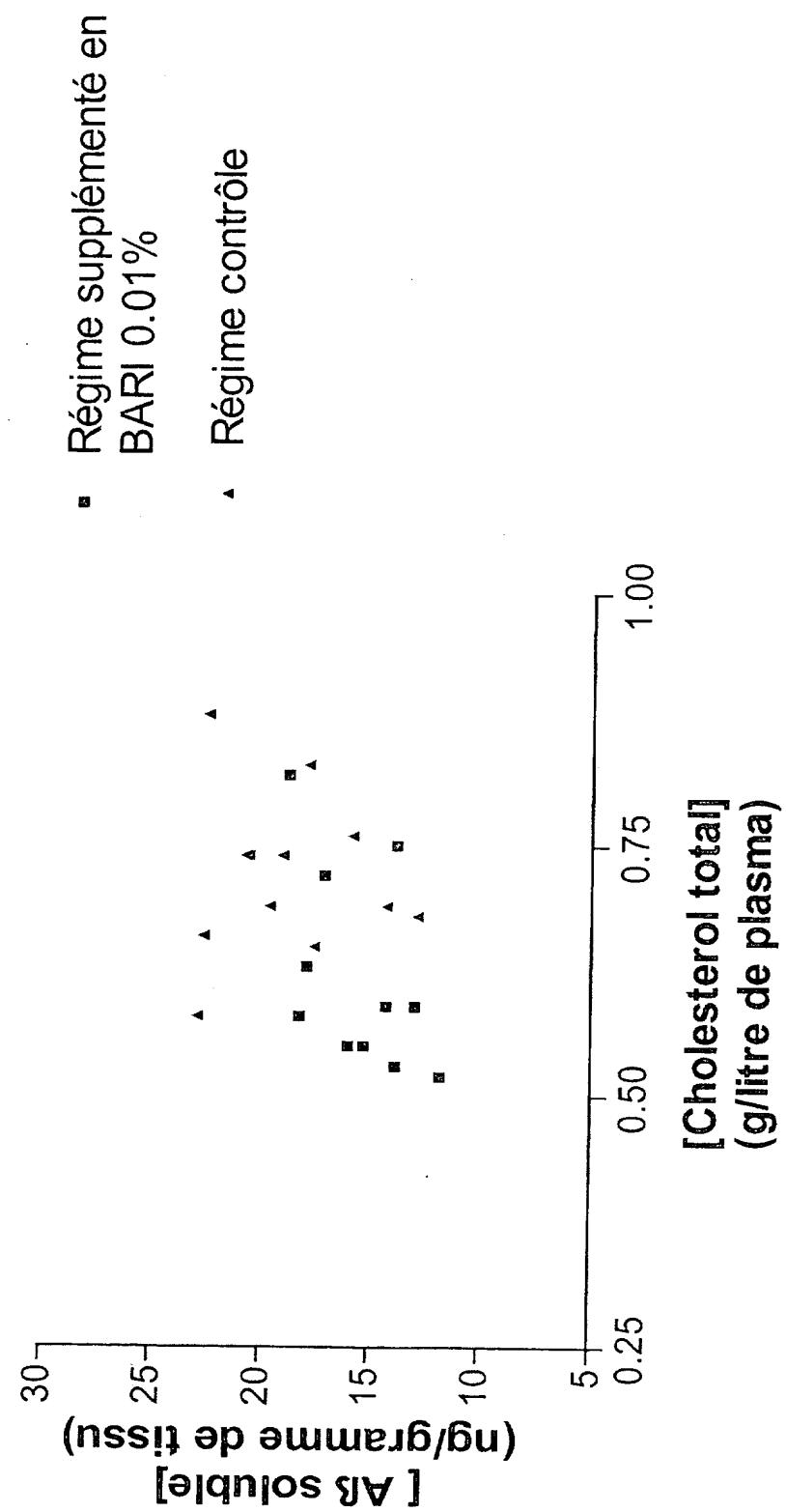


FIGURE 1